

Celice MRC-5 | 300395

Splošne informacije

Description

Celice MRC-5, celična linija človeških pljučnih fibroblastov, pridobljena iz pljučnega tkiva 14 tednov starega moškega ploda leta 1966, se pogosto uporablja pri proizvodnji nekaterih cepiv, vključno s cepivi proti hepatitisu A, otroški paralizi, steklini in drugim.

Občutljivost na različne človeške viruse, zlasti na človeški poliovirus 1, virus herpes simpleksa in virus vezikularnega stomatitisa, poudarja vlogo celic MRC5 pri odkrivanju protivirusnih zdravil, virusnih cepiv, varnosti cepiv in replikaciji virusov. Celične linije MRC-5 in WI-38 se še vedno uporabljajo za izdelavo cepiv proti varicelli, rdečkam, hepatitisu A in različice cepiva proti steklini. Pred kratkim so bile celice MRC-5 spremenjene tako, da izražajo receptor ACE2, in so bile ključne pri raziskavah SARS. Modificirane človeške celice MRC5 z ace2 znanstvenikom omogočajo preučevanje, kako virus SARS-CoV vstopa v gostiteljske celice in se v njih razmnožuje. To delo je ključnega pomena za razumevanje obnašanja virusa ter razvoj ciljno usmerjenih protivirusnih sredstev in zdravljenja.

Uporabnost fetalne celične linije MRC5 presega proizvodnjo cepiv in vključuje potencialno vlogo pri raziskavah raka, saj se celična linija zaradi svoje sposobnosti diferenciacije v več vrst celic, vključno z osteociti in hondrociti, uporablja v študijah, ki preučujejo tumorsko mikrookolje in interakcije med rakavimi celicami. To je povzročilo domneve o njihovi podobnosti z mezenhimskimi matičnimi celicami (MSC) zaradi njihove morfologije, podobne fibroblastom, in ohranjanja normalnega diploidnega kariotipa med obsežno in vitro širitvijo.

Organism Človek

Tissue Pljuča

Applications Proizvodnja cepiva

Synonyms MRC5, MRC 5, MRCV, MRC-V, celični sev 5 Sveta za medicinske raziskave

Značilnosti

Age Plod

Gender Moški

Cell type Fibroblast

Growth properties Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation MRC-5 (kataloška številka Cytion 300395)

Celice MRC-5 | 300395

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0440

Biomolekularni podatki

Virus susceptibility Ni dovzeten za okužbo s koronavirusom SARS 2 (SARS-CoV-2) (COVID-19)

Karyotype MRC5 je diploidna celična linija z modalnim številom kromosomov 46.

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (številka izdelka Cytion 820100a)

Supplements Gojišče dopolnite z 10 % FBS in 1 % NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice MRC-5 | 300395

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Za optimalno pritrnitev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice MRC-5 | 300395

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Aleli HLA

A*: '02:01:01, '29:02:01

B*: '07:02:01, '44:02:01

C*: '05:01:01, '07:02:01

DRB1*: '04:08:01, '15:01:01G

DQA1*: '01:02:01, '03:03:01

DQB1*: '03:01:01, '06:02:01

DPB1*: '04:01:01

E: '01:01:01